Test Elucigene® QST*R-PL (Fausses couches)

Mode d'emploi

Code cat. : AN6XYB1 – 25 tests

IVD Utilisation pour diagnostic in vitro

CE

Fabriqué par :
Elucigene Diagnostics
Citylabs
Nelson Street
Manchester
M13 9NQ

Pour joindre le service des ventes, le service clients et le service technique :
T : + +44 (0) 161 669 8122
F : + +44 (0) 161 669 8129
E-mail : enquiries@elucigene.com
E-mail : techsupport@elucigene.com

Elucigene Diagnostics est le nom commercial de Delta Diagnostics (UK) Limited., une société enregistrée en Angleterre et au Pays de Galles, sous le numéro 8696299.

Elucigene QST*R-PL

Usage prévu

Pour le diagnostic *in vitro* routinier des six trisomies autosomiques les plus répandues associées aux avortements spontanés : trisomie 13 (syndrome de Patau), trisomie 15, trisomie 16, trisomie 18 (syndrome d'Edwards), trisomie 21 (syndrome de Down) et trisomie 22. Le kit comprend également les marqueurs chromosomiques X et Y ainsi que le marqueur TAF9L pour la détermination du type sexuel. La méthode employée par le kit Elucigene QST*R-PL est la technique de réaction en chaîne par polymérase-fluorescence quantitative (QF-PCR, Quantitative Fluorescence-Polymerase Chain Reaction). Le dispositif est conçu pour être utilisé avec de l'ADN extrait soit de matériel fœtal obtenu après une fausse couche soit de sang entier (d'origine fœtale). Les femmes ayant fait l'objet d'une fausse couche spontanée sont la population cible prévue. Les résultats obtenus par le kit QST*R-PL peuvent contribuer à déterminer le statut d'aneuploïdie du fœtus ; il est conçu pour être utilisé avec d'autres procédures diagnostiques pour confirmer ou écarter le diagnostic clinique proposé. Le dispositif est destiné à un usage professionnel exclusivement en milieu de laboratoire moléculaire ou cytogénétique.

Résumé et explication

Statistiquement, 10 à 20 % de l'ensemble des grossesses se terminent en avortement spontané (fausse couche), dont la majorité survient vers la fin du premier trimestre. Parmi ces cas, il a été démontré que plus de 50 % d'entre eux sont provoqués par une anomalie chromosomique (1), principalement une aneuploïdie ; les anomalies les plus couramment observées sont les trisomies, qui représentent 60 % de l'ensemble des anomalies chromosomiques présentes dans les fausses couches. La trisomie la plus fréquemment observée dans les produits de la conception (PDC) est la trisomie du chromosome 16, cependant les trisomies des chromosomes 13, 15, 18, 21 et 22 figurent également parmi les plus fréquentes. Parmi les autres aneuploïdies couramment observées figurent la monosomie X et la triploïdie, qui représentent environ 20 % et 15 % de l'ensemble des anomalies, respectivement. Ces données sont présentées dans la figure 1 ci-dessous (2).

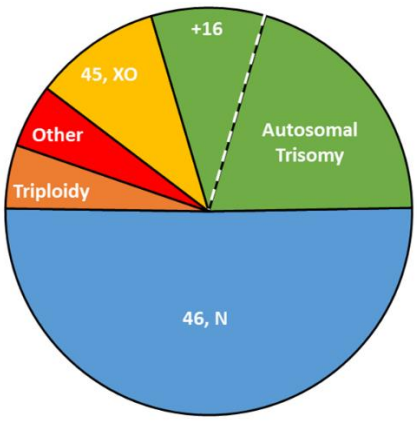


Figure 1 : Résultats chromosomiques identifiés dans les produits de la conception ; 46N correspond aux résultats normaux.

Principes de la procédure

La méthode employée par les kits Elucigene QST*R est la technique de réaction en chaîne par polymérase-fluorescence quantitative (QF-PCR, Quantitative Fluorescence-Polymerase Chain Reaction) (3-6). En utilisant l'amplification par PCR, les amorces marquées par fluorescence ciblent des régions hautement polymorphiques de séquences d'ADN appelées STR (Short Tandem Repeat ou séquences brèves répétées en tandem) qui se situent sur les chromosomes d'intérêt. Chacun des marqueurs STR ciblés est spécifique au chromosome sur lequel il se trouve, donc le nombre de copies du marqueur STR peut indiquer le nombre de copies du chromosome. Des marqueurs STR informatifs ont été sélectionnés pour leur hétérogénéité élevée, afin de pouvoir déterminer facilement le nombre de copies. Un échantillon diploïde normal comporte le jeu normal de deux de chacun des chromosomes somatiques ; ainsi, deux allèles d'un STR spécifique du chromosome sont déterminés par la technique de QF-PCR comme deux pics avec un rapport 1:1. La présence d'un allèle de STR supplémentaire sous la forme d'un ensemble de trois pics avec un rapport 1:1:1 ou un ensemble de deux pics avec un rapport 2:1 ou 1:2 est un diagnostic de la présence d'une séquence supplémentaire, qui peut à son tour représenter un chromosome supplémentaire, comme c'est le cas pour une trisomie.

Les produits amplifiés issus de la technique QF-PCR sont analysés de façon quantitative sur un Genetic Analyzer (Analyseur génétique) par électrophorèse capillaire pour déterminer le nombre de copies des marqueurs STR analysés.

Avertissements et précautions

1. Le contrôle ADN normal fourni avec les kits a été testé de manière indépendante et trouvé négatif pour le virus de l'hépatite B (VHB), le virus de l'hépatite C (VHC) et les virus de l'immunodéficience humaine (VIH) 1 et 2.

2. Des précautions doivent être prises lors de la manipulation de matériel d'origine humaine. Tous les échantillons doivent être considérés comme potentiellement infectieux. Aucune méthode d'analyse ne peut garantir totalement l'absence du VHB, du VHC, du VIH ou d'autres agents infectieux.

3. La manipulation des échantillons et des composants du test, leur utilisation, leur conservation et leur élimination doivent respecter les procédures définies par les recommandations ou les réglementations nationales appropriées en matière de sécurité biologique.

4. Conformément aux bonnes pratiques de laboratoires actuelles, les laboratoires doivent traiter leurs propres échantillons internes de CQ de type connu avec chaque analyse, afin d'évaluer la validité de la procédure.

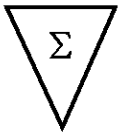
5. Si l'emballage du kit est endommagé, le contenu peut l'être aussi ; ne pas utiliser le kit et contacter le service clients.

Symboles utilisés sur les étiquettes

Les symboles utilisés sur l'ensemble des étiquettes et conditionnements respectent la norme harmonisée

ISO 15223

Fabricant



Nombre de tests

Voir le mode d'emploi

Conserver en dessous de la température indiquée

Utiliser avant la date indiquée

Code du catalogue

Numéro de lot ou de série

Dispositif médical de diagnostic in vitro

Matériel fourni

Conserver tous les éléments à une température inférieure à -20 °C

Le kit Elucigene QST*R-PL IVD contient :

450089 1 x 250 µl de mélange réactif (TA)

404485, 1 x 50 µl de contrôle ADN (DC)

Quantité suffisante pour 25 tests.

Préparation et conservation du kit

Après ouverture du kit, il est recommandé de distribuer le mélange réactif dans les flacons de PCR de 0,2 ml en volumes de 10 µl, et de les congeler à -20 °C. Il convient de s'assurer que le contenu des flacons est complètement décongelé et mélangé avant la distribution.

Le contrôle ADN doit être congelé à -20 °C.

Matériel nécessaire mais non fourni

Général

Consommables de laboratoire – gants ; tubes de microcentrifugation avec bouchons à vis ; flacons de PCR de 0,2 ml ou plaques de microtitration recommandés par le fabricant du thermocycleur utilisé ; embouts de pipette.

Équipement de laboratoire – pipettes de précision (2 jeux : 1 pour la manipulation pré-amplification et 1 pour la manipulation post-amplification ; pipettes à déplacement positif de préférence) ; vêtements de protection ; vortexeur ; micro-centrifugeuse ; centrifugeuse pour plaques de microtitration de 96 puits.

Amplification par PCR

Thermocycleur adapté pour des plaques de microtitration de 96 puits ou des flacons de 0,2 ml avec une précision de température de ± 1 °C dans la plage de 33 °C à 100 °C et une uniformité statique de température de ± 1 °C. QST*R-PL a été validé et a montré respecter les spécifications sur les plateformes de thermocycleur recommandées suivantes :

- Life Technologies GeneAmp 9700
- Life Technologies Veriti Dx (fonctionnant en mode standard)
- Life Technologies Veriti Dx (fonctionnant en mode simulation 9700)
- Life Technologies Proflex (fonctionnant en mode standard)
- Life Technologies Proflex (fonctionnant en mode simulation 9700)

Remarque : *Les intensités de signal du pic peuvent augmenter lors de l'utilisation des plateformes de thermocycleur Veriti et Proflex comparées à la plateforme GeneAmp 9700.*

Électrophorèse capillaire

Électrophorèse capillaire – Marqueurs de taille GeneScan 500 LIZ (ABI N° de cat. 4322682), polymère POP-7 (ABI N° de cat. 4352759), matrice standard DS-33 (ensemble de fluorochromes G5) (ABI N° de cat. 4345833), 10x Genetic Analyzer Buffer (tampon d'analyseur génétique) (ABI N° de cat. 402824) et Formamide Hi-Di (ABI N° de cat. 4311320).

Analyseurs génétiques Applied Biosystems ABI 3130 et 3500 (avec logiciel de collecte des données actuel), rangée de capillaires de 36 cm (rangée de capillaires de 50 cm pour l'analyseur génétique 3500), plaques optiques de 96 puits, septas pour 96 puits, cassettes de 96 puits.

Analyse des données

L'un des progiciels d'analyse de données suivant est requis : GeneMapper 4.1 (Applied Biosystems Inc.) ou version ultérieure ou GeneMarker 1.65 (SoftGenetics LLC) ou version ultérieure.

Documentation Elucigene QST*R supplémentaire

Ce mode d'emploi comprend un chapitre de base sur l'interprétation des résultats obtenus, ainsi qu'un guide sur l'analyse logicielle avec à la fois les progiciels GeneMapper et GeneMarker. Un Guide d'interprétation supplémentaire contenant des exemples et un glossaire sont disponibles sur le site Internet de Elucigene : www.elucigene.com.

Extraction de l'ADN

Méthode d'extraction de l'ADN permettant d'obtenir un ADN de qualité amplifiable par PCR à une concentration de 0.5 ng/µl à 4 ng/µl.

Concentration de l'ADN

À l'aide des conditions de PCR recommandées et des paramètres* d'injection de l'échantillon mentionnés dans le module de fonctionnement de la colonne capillaire (page 9), des résultats optimaux sont obtenus avec une quantité d'ADN de départ de 2,5 ng. Cependant, des résultats interprétables sont obtenus avec un intervalle d'ADN de départ de 1,25 ng à 10 ng.

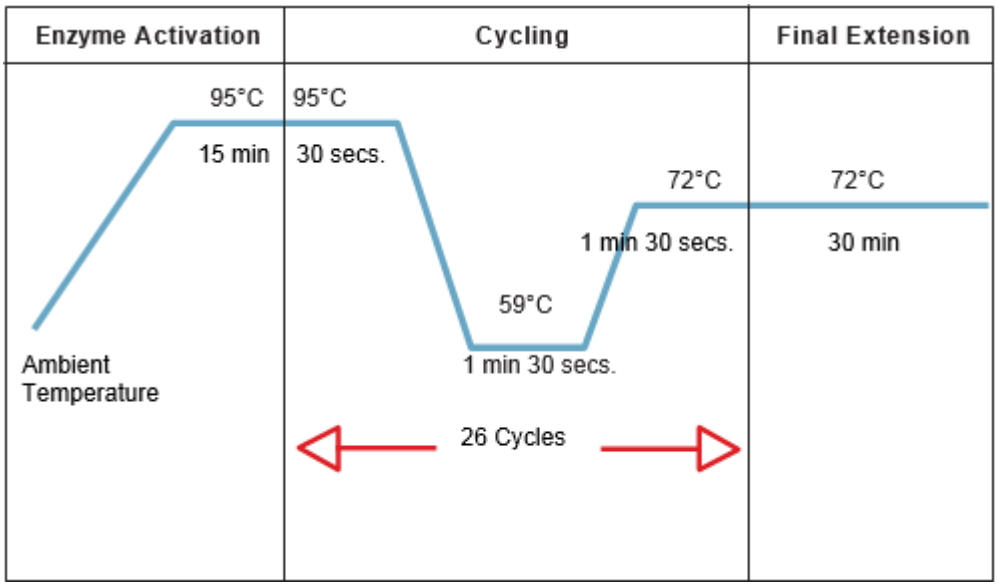
***Remarque :** les paramètres d'injection de l'échantillon peuvent être modifiés pour s'adapter à la quantité d'amplicon produite pendant la réaction PCR qui peut varier en fonction de la quantité d'ADN génomique d'entrée ajoutée. Une quantité plus faible d'amplicon peut être appliquée à la colonne pour l'analyse en réduisant la durée d'injection. Inversement, une quantité plus importante d'amplicon peut être appliquée à la colonne pour l'analyse en augmentant soit la durée soit le voltage de l'injection. Des échantillons précédemment amplifiés peuvent être ré-injectés plusieurs fois pour une nouvelle analyse.*

Protocole de test

Procédure d'amplification

Remarque : *afin de minimiser le risque de contamination, les étapes 3 à 5 doivent être réalisées dans une zone exempte d'ADN. Des mesures doivent aussi être prises pour éviter la contamination avec un produit PCR.*

1. Programmer le thermocycleur pour un cycle à étape unique pour activer l'ADN polymérase à 95 °C pendant 15 minutes, relié à un programme cyclique d'amplification de 30 secondes à 95 °C (dénaturation), 1 minute et 30 secondes à 59 °C (renaturation) et 1 minute et 30 secondes à 72 °C (extension) pendant 26 cycles. Cela peut être associé à un fichier retardé de 30 minutes à 72 °C (extension) pendant le cycle final.



2. Un contrôle négatif (eau) doit être inclus dans chaque série PCR. Il peut aussi être approprié d'inclure d'autres contrôles, par ex. contrôle positif normal (contrôle ADN fourni) et contrôle positif de trisomie (ADN non fourni).

3. Décongeler suffisamment de flacons de mélange réactif QST*R-PL pré-aliquoté pour le nombre d'échantillons et de contrôles à tester (consulter la remarque sous Matériel fourni) et centrifuger les flacons à 12 000 g pendant 10 secondes.

4. À l'aide d'embouts de pipette distincts, ajouter 2,5 µl de l'ADN de test dans un flacon d'échantillon contenant 10 µl de mélange réactif QST*R-PL, et mélanger par pipetage va-et-vient. Répéter pour tous les échantillons à tester.

5. Ne pas ajouter d'ADN au flacon de PCR pour le contrôle négatif ; remplacer par 2,5 µl d'eau distillée stérile.

6. Centrifuger brièvement les flacons jusqu'à ce que tout le liquide soit au fond de chaque flacon.

7. Placer fermement tous les flacons dans le bloc du thermocycleur. Lancer le programme d'activation à 95 °C, suivi par le programme d'amplification (voir l'étape 1).

8. À la fin du programme d'amplification, les échantillons peuvent être conservés à température ambiante jusqu'au lendemain ou à 2-8 °C pendant une durée maximale de 7 jours avant leur analyse par électrophorèse capillaire.

Électrophorèse capillaire

Il est recommandé à chaque utilisateur de s'assurer que l'équipement choisi est utilisé conformément aux instructions du fabricant et qu'il est compatible avec ce test. Dans cette situation, les paramètres clés sont le polymère et la rangée de capillaires. Les conditions d'électrophorèse capillaire suivantes permettent d'obtenir des résultats optimaux sur un analyseur génétique ABI3130 ou ABI3500.

1. Mélanger 6,85 µl de marqueur de taille à 250 µl de formamide Hi-Di et agiter soigneusement (mélange suffisant pour 16 puits). Distribuer 15 µl du mélange dans le nombre requis de puits d'une plaque optique à 96 puits.

2. Ajouter 3 µl de produit PCR de l'échantillon de test au mélange de marqueur de taille (de l'étape 1) déjà distribué dans la plaque et mélanger en utilisant la pipette. Sceller la plaque.

3. Dénaturer le produit PCR distribué dans la plaque optique sur un thermocycleur avec les paramètres suivants : 94 °C pendant 3 minutes puis 4 °C pendant 30 secondes.

4. Centrifuger la plaque à 1 000 g pendant 10 secondes pour éliminer les bulles éventuelles des puits, puis charger sur l'analyseur génétique.

***Remarque :** *Il est essentiel que les puits inutilisés (c.-à-d. les puits dans lesquels aucun échantillon ADN n'est chargé) soient quand même chargés avec du formamide Hi-Di afin de s'assurer que les capillaires ne sèchent pas.*

Analyse des données après la PCR

ABI3130 GENETIC ANALYZER (ANALYSEUR GÉNÉTIQUE)

Créer une fiche d'échantillon à l'aide du logiciel de collecte des données 3130 en utilisant les paramètres suivants :

• Nom de l'échantillon : doit être le même nom ou numéro spécifique de l'échantillon.

• Propriétaire de la série : sélectionner le propriétaire par défaut du laboratoire.

• Protocole de la série : QSTR (contient le module de série QST*R 3130 – voir ci-dessous)*.

***Remarque :** *Il est nécessaire de créer un module de série détaillant les paramètres de l'instrument et de l'affecter ensuite à un protocole de série dans lequel l'ensemble de fluorochromes G5 a été sélectionné. Pour de plus amples informations sur la création de modules de série, veuillez consulter le manuel utilisateur de votre instrument.*

3130 RUN MODULE (MODULE DE SÉRIE)

POUR LE POLYMÈRE POP7

Module de capillaires de 36 cm / QSTR

#	Nom du paramètre	Valeur	Intervalle
1	Oven Temperature	60	int 18…65 °C
2	Poly_fill_Vol.	6500	6500…38000 steps
3	Current Stability	5,0	int 0…2000 uAmps
4	PreRun_Voltage	15,0	0…15 kvolts
5	Pre_Run_Time	180	1…1000 kvolts
6	Injection_Voltage	3,0	1…15 kvolts
7	Injection_Time	15	1…600 kvolts
8	Voltage_Number_of_Steps	20	1…100 kvolts
9	Voltage_Step_Interval	15	1…60 kvolts
10	Data_Delay_Time	60	1…3600 kvolts
11	Run_Voltage	15,0	0…15 kvolts
12	Run_Time	1200	300…14000 kvolts

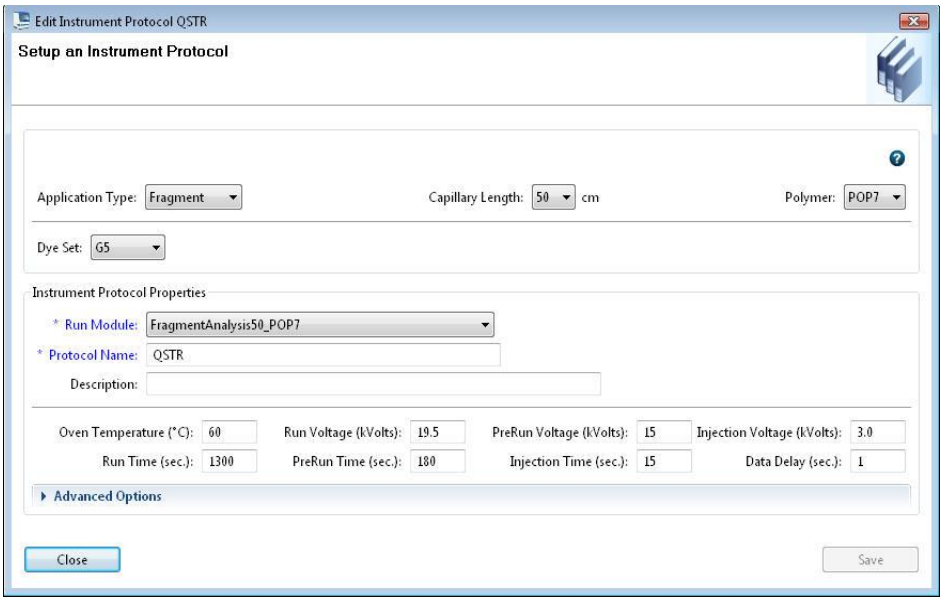
ABI3130 GENETIC ANALYZER (ANALYSEUR GÉNÉTIQUE)

Un protocole QST*R doit être créé et pourra ensuite être réutilisé pour chaque série QST*R. Créer le protocole d'instrument QST*R à l'aide de la bibliothèque de protocoles d'instrument du 3500.

S'assurer que les options suivantes sont sélectionnées :

• Run Module (Module de série) : FragmentAnalysis50_POP7

• Saisir les paramètres indiqués dans l'image ci-dessous :



Pour traiter les échantillons, créer une plaque d'échantillons en cliquant sur « Create Plate from Template » (Créer plaque à partir de la matrice) sur le « Dashboard » (Tableau de bord), s'assurer que le protocole d'instrument adéquat pour QST*R a été affecté (voir ci-dessus).

Analyse et interprétation des résultats

Il est recommandé que chaque laboratoire développe ses propres procédures et critères d'interprétation et de compte-rendu. Des directives de meilleures pratiques pour la QF-PCR ont été documentées par l'Association for Clinical Genetic Science au Royaume-Uni, et sont disponibles pour référence à :

www.acgs.uk.com

Les produits PCR sont observés comme un système marqué par 5 fluorochromes utilisant un ensemble de filtres G5. L'ensemble de filtres G5 détecte les fragments marqués au 6-FAM (bleu), au VIC (vert), au NED (jaune) et au PET (rouge) plus le marqueur de taille marqué au LIZ (orange) sur un électrophorégramme et dans le programme GeneMapper ou GeneMarker.

Un guide d'interprétation QST*R est disponible sur le site Internet de Elucigene : www.elucigene.com.

Remarque importante : *Différentes combinaisons d'appareils, de polymères et de marqueurs de taille peuvent produire une légère variation dans la dénomination des tailles.. Au cours de la validation du kit, les utilisateurs doivent vérifier que les paramètres de segment par défaut produisent un étiquetage précis des pics et les ajuster si nécessaire. En cas de difficultés, veuillez contacter le support technique (techsupport@elucigene.com) pour obtenir des conseils.*

Directives d'analyse générales pour QST*R-PL

1. Le contrôle négatif ne doit montrer aucun pic prononcé dans la plage de lecture comprise entre 100 et 510 pb.

2. Le contrôle positif doit montrer les résultats attendus et tous les pics doivent répondre aux critères ci-dessous.

3. Pour l'analyse des échantillons d'ADN, au moins un pic doit être observé pour chaque marqueur testé. La plage acceptable pour les pics de marqueur analysés sur l'analyseur génétique 3130 va de 50 à 6 000 unités relatives de fluorescence (urf) et de 175 à 32 000 urf pour les analyseurs génétiques 3500. Les hauteurs de pics situées en dehors de cette plage ne doivent pas être analysées.

4. Les électrophorégrammes de mauvaise qualité en raison d'une diffusion excessive entre les fluorochromes (aussi appelée « pull-up ») ou les « pointes d'électrophorèse » (pics prononcés présents dans plusieurs fluorochromes) ne doivent pas être interprétés. Les produits PCR doivent être ré-injectés et ré-analysés.

5. L'analyse est réalisée par l'évaluation des rapports de pics (A1/A2), où A1 correspond à la surface de pic du fragment plus court et A2 correspond à la surface de pic du fragment plus long. Le rapport résultant est un diagnostic du nombre de copies de locus. Pour les chromosomes disomiques, les marqueurs hétérozygotes doivent montrer deux pics de hauteur similaire. Une analyse complète de l'état du nombre de copies chromosomiques est réalisée par comparaison des rapports de surface de pic.

6. Les marqueurs dialléliques (c.-à-d. deux allèles) hétérozygotes doivent être compris dans une plage de rapport de 0,8 à 1,4. Cependant, pour deux allèles séparés par plus de 24 pb en taille, un rapport maximal de 1,5 est acceptable. Toutes les valeurs comprises dans cette région sont désignées comme ayant un rapport de 1:1. Si l'équilibre de rapport se situe en dehors de cette fenêtre, cela peut être dû à plusieurs facteurs, notamment :

   - Trisomie chromosomique complète
   - Trisomie chromosomique partielle (y compris les réplications submicroscopiques)
   - Mosaïcisme
   - Second génotype contaminant (par ex. maternel, jumeau, externe)
   - Parasites (stutters) produisant un biais
   - Amplification préférentielle d'un allèle produisant un biais
   - Polymorphismes des sites d'amorce
   - Mutations somatiques des microsatellites

   Le **Guide d'interprétation** donne des exemples de profils types pour beaucoup de ces facteurs. Les marqueurs homozygotes sont non informatifs car un rapport ne peut pas être déterminé.

7. Pour interpréter un résultat comme anormal (c.-à-d. présence de trisomie), il est nécessaire d'avoir au moins deux marqueurs informatifs correspondant à un génotype triallélique, tous les autres marqueurs étant non informatifs. Il n'est pas recommandé d'interpréter un résultat comme anormal sur la base d'informations provenant d'un seul marqueur. Si nécessaire, des tests de suivi avec les kits de chromosome simple (par ex. Elucigene QST*R-13, Elucigene QST*R-18, Elucigene QST*R-21) peuvent fournir suffisamment d'informations pour l'interprétation.

   La trisomie est déterminée par soit :

   7.1. Deux pics de hauteur inégale dus au fait que l'un des pics représente deux allèles présents chez l'un ou les deux parents. Dans ce cas, le rapport entre les deux pics sera classé comme 2:1 ou 1:2 de telle sorte que A1/A2 produira un résultat dans la région de 1,8 à 2,4 quand le pic représentant l'allèle plus court a une surface supérieure à celle du pic représentant l'allèle plus long, ou A1/A2 produira un résultat dans la région de 0,45 à 0,65 quand le pic représentant l'allèle plus court a une surface inférieure à celle du pic représentant l'allèle plus long.

   7.2. Trois pics de hauteur comparable sont présents. Le rapport des pics sera classé comme 1:1:1 et leurs valeurs sont comprises dans la plage normale de 0,8 à 1,4 (bien que pour les allèles ayant un écart supérieur à 24 pb un rapport d'allèle maximal de 1,5 soit acceptable). Si cela ne se produit pas, cela peut être dû à l'un des facteurs cités à l'étape 6.

8. Pour interpréter un résultat comme normal, il est nécessaire d'avoir au moins deux marqueurs informatifs correspondant à un génotype diallélique, tous les autres marqueurs étant non informatifs. Un résultat normal indique le complément de deux normal pour les chromosomes testés.

9. Les rapports de région de pic qui sont compris entre les plages normale et anormale sont classés comme non concluants. Les résultats non concluants peuvent être résolus en utilisant les kits de chromosome simple.

10. Si des ensembles d'allèles à la fois normaux et anormaux sont obtenus pour un seul chromosome, il est recommandé de réaliser des études de suivi pour identifier la cause des résultats divergents avant de tirer quelque conclusion que ce soit.

11. Dans de rares cas les plages de taille d'allèle pour les marqueurs peuvent se chevaucher. Si cela est suspecté, une analyse avec les kits pour chromosome simple peut résoudre le problème.

Analyse des marqueurs de chromosomes sexuels AMEL, TAF9 et SRY:-

1. Le marqueur AMEL amplifie les séquences non polymorphiques sur les chromosomes X (104 pb) et Y (110 pb) et peut être utilisé pour déterminer la présence ou l'absence d'un chromosome Y, et représente la quantité relative de séquence X à Y. Veuillez noter qu'en de rares occasions un échec de l'amplification dû à une mutation de la séquence AMEL-Y a été signalé.

2. TAF9L est un marqueur paralogue invariant avec des séquences sur les chromosomes 3 et X. Le pic spécifique du chromosome 3 (116 pb, représentant 2 copies du chromosome 3) peut donc être utilisé comme pic de référence pour faciliter la détermination du nombre de chromosomes X présents (pic de 121 pb). Analysé en combinaison avec l'amélogénine et les autres marqueurs des chromosomes sexuels, il est particulièrement utile dans la détection d'aneuploïdie des chromosomes sexuels. Chez une femme normale, les marqueurs doivent être compris dans une fenêtre de rapport de 0,8 à 1,4. Chez un homme normal, les marqueurs produiront un rapport de 1,8 ou plus. Le Guide d'interprétation donne plus de détails sur l'interprétation du marqueur TAF9L.

3. Le marqueur SRY spécifique de Y produit un seul pic chez les hommes normaux et n'amplifie pas chez les femmes normales.

Caractéristiques des performances

VALIDATION INTERNE

125 échantillons dérivés de tissus fœtal ont été testés avec Elucigene QST*R-PL. Parmi ceux-ci, 34 étaient normaux/XY, 40 étaient normaux/XX, 5 étaient T22/XY, 1 était T22/XX, 3 étaient T21/XY, 4 étaient T21/ XX, 3 étaient T18/XY, 5 étaient T18/XX, 6 étaient T16/XY, 2 étaient T16/XX, 1 était T15/XY, 1 était T15/XX, 2 étaient T13/XY, 2 étaient T13/XX, 7 avaient une monosomie X, 8 étaient triploïdes pour tous les chromosomes testés. Un échantillon a produit un résultat non informatif en raison d'une homozygotie au sein de l'ensemble de marqueurs. Cet échantillon a ensuite été analysé avec QST*R-18 et a montré être T18/XX. Tous les résultats analysables ont montré une concordance de 100 % avec les résultats obtenus précédemment avec d'autres méthodes alternatives et établies.

Guide d'analyse GeneMapper

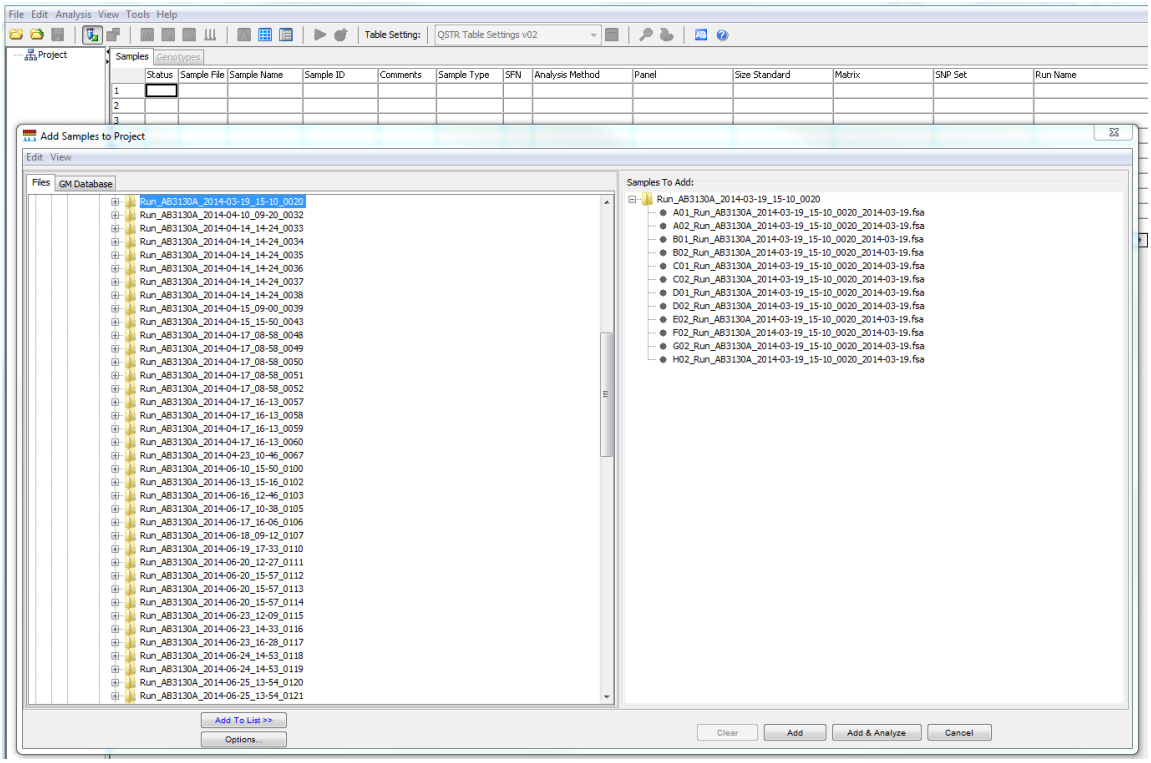
Remarque : *Les captures d'écran suivantes proviennent de GeneMapper v5.0*

Import et analyse des fichiers QST*R

1. Ouvrir le fichier de l'application GeneMapper.
2. Cliquer sur afin d'ajouter les fichiers de données à un nouveau projet. Naviguer à l'endroit de stockage des fichiers de données brutes .fsa, sélectionner les fichiers de données appropriés et cliquer sur le bouton « **Add to List** >> » (Ajouter à la liste >>).
3. Le dossier de traitement apparaît à présent dans la zone « **Samples to Add** » (Échantillons à ajouter). Double-cliquer sur l'icône du dossier de traitement dans cette fenêtre pour afficher chaque fichier .fsa à importer. Ajouter ensuite les échantillons en cliquant sur

en bas de l'écran. Les fichiers de données apparaissent à présent dans l'écran principal de GeneMapper (figure 2).

Figure 2 : Échantillons prêts à être ajoutés au projet



Importer les paramètres d'analyse GeneMapper QST*R dans GeneMapper Manager

Les paramètres QST*R pour GeneMapper doivent être importés. Ce processus est contrôlé par l'interface « **GeneMapper Manager** » (Gestionnaire GeneMapper). Les paramètres de GeneMapper QST*R sont disponibles sur le site Internet de Elucigene : www.elucigene.com/product-category/rapid-aneuploidy-analysis/

1. Ouvrir « **GeneMapper Manager** » (Gestionnaire GeneMapper) en cliquant sur l'icône .
2. Sélectionner l'onglet « Analysis Methods » (Méthodes d'analyse) puis cliquer sur le bouton Import (Importer).
3. Parcourir les dossiers et importer le ou les fichiers de paramètres d'analyse QST*R (3130 ou 3500).
4. Recommencer le processus, en sélectionnant l'onglet approprié et en important le fichier correspondant pour :
    - Table Settings (Paramètres de tableau)
    - Plot Settings (Paramètres de graphe)
    - Size Standards (Marqueurs de taille)

    Remarque : *Les paramètres Cluster Plot Settings (Paramètres de regroupement de graphe), Matrices (Matrices), SNP Sets (Ensembles SNP) et Report Settings (Paramètres de compte-rendu) ne nécessitent pas d'importation de fichier.*

Importer les paramètres du panel QST*R-PL dans le Panel Manager (Gestionnaire de panel)

Les paramètres de panel et de segment QST*R-PL pour GeneMapper doivent être importés. Ce processus est contrôlé par l'interface « **Panel Manager** » (Gestionnaire de panel).

Les paramètres de panel et de segment GeneMapper QST*R-PL sont disponibles sur le site Internet de Elucigene : www.elucigene.com/product-category/rapid-aneuploidy-analysis/

1. Ouvrir l'application Panel Manager (Gestionnaire de panel) en cliquant sur l'icône .
2. Cliquer sur « **Panel Manager** » (Gestionnaire de panel) dans la fenêtre de navigation de gauche. Le Gestionnaire de panel apparaît à présent surligné en bleu.
3. Sélectionner « **File/Import Panels** » (Fichier/Importer panels). Parcourir les dossiers et importer le fichier de panel GeneMapper « **QSTRPL Panel.txt »** (figure 3).
4. Le fichier de panel apparaît à présent dans la fenêtre de navigation de gauche. Cliquer sur le fichier de panel pour qu'il soit surligné en bleu.
5. Sélectionner « **File/Import Bin Set** » (Fichier/Importer ensemble de segments). Parcourir les dossiers et importer le fichier de segment GeneMapper **« QSTRPL Bins.txt** » (figure 4).
6. Cliquer sur « **Apply** » (Appliquer) puis sur « **OK** ».

Figure 3 : Importation du fichier de panel QST*R-PL

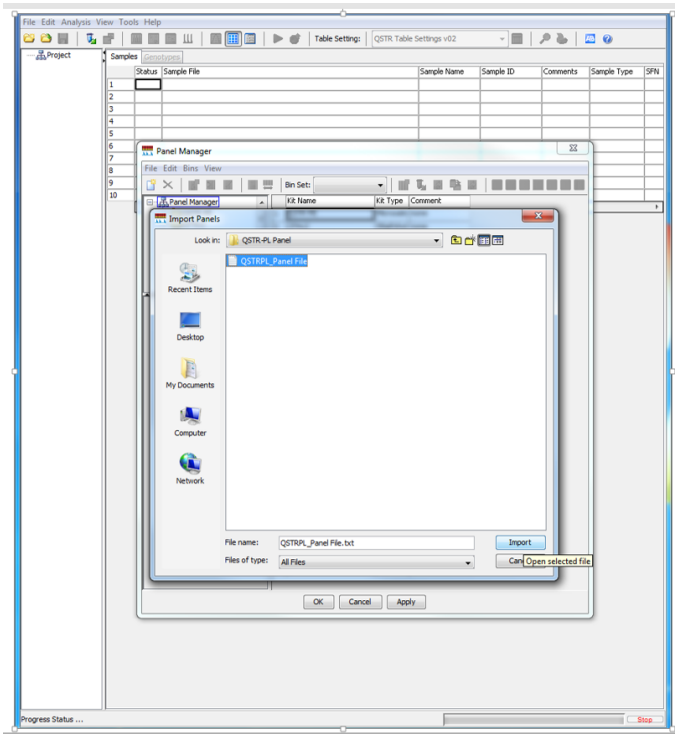
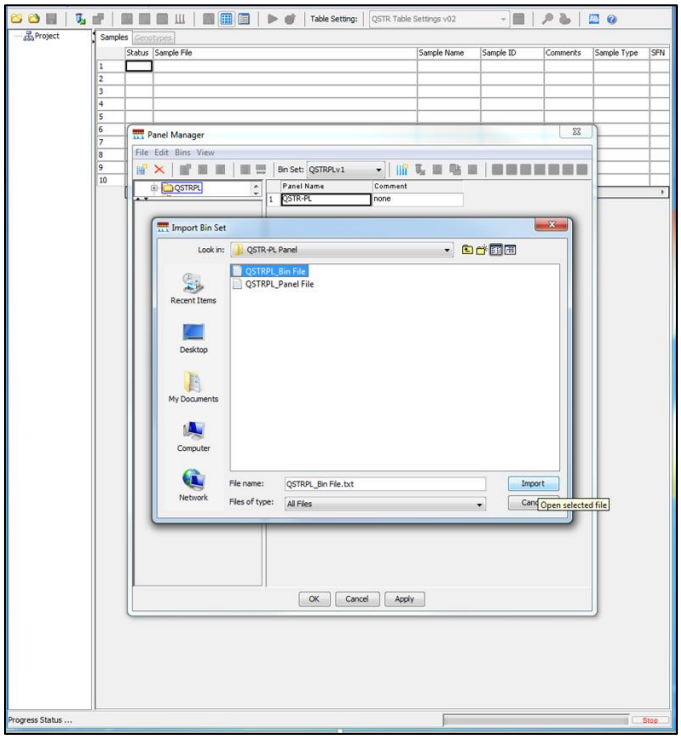


Figure 4 : Importation du fichier de segment QST*R-PL



Modifier le fichier de paramètres d'analyse

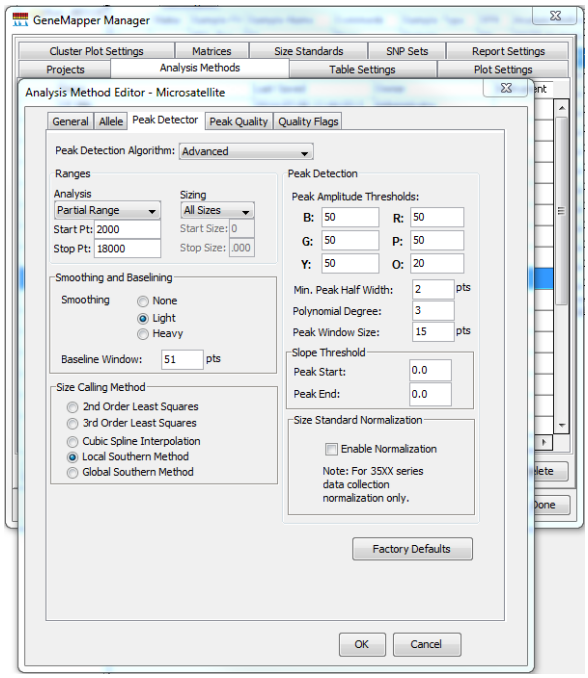
Il peut être nécessaire de modifier les « **Analysis Ranges** » (Plages d'analyse) par défaut dans les paramètres d'analyse QST*R, pour représenter la variance locale des conditions d'analyse. La plage minimum d'analyse dépendra du capillaire et du polymère utilisés pendant la collecte des données.

Procédure pour visualiser les paramètres d'analyse actuels :

1. Ouvrir « **GeneMapper Manager** » (Gestionnaire GeneMapper) en cliquant sur l'icône .
2. Cliquer sur l'onglet « **Analysis Methods** » (Méthodes d'analyse). Le fichier QST*R importé est intitulé « **QSTR Analysis v02** » (Analyse QSTR v02).
3. Cliquer sur « **QSTR Analysis v02** » (Analyse QSTR v02). La ligne apparaît à présent surlignée.
4. Cliquer sur le bouton « **Open** » (Ouvrir) et sélectionner l'onglet « **Peak Detector** » (Détecteur de pic) (figure 5).

Les plages d'analyse sont paramétrées par défaut pour commencer à 2 000 et se terminer à 18 000.

Figure 5 : Plages d'analyse.



Procédure pour déterminer la plage d'analyse adaptée à votre laboratoire :

1. Dans la fenêtre principale GeneMapper, double-cliquer sur le dossier de traitement importé, pour visualiser la liste des fichiers .fsa qu'il contient.

2. Sélectionner un fichier .fsa.

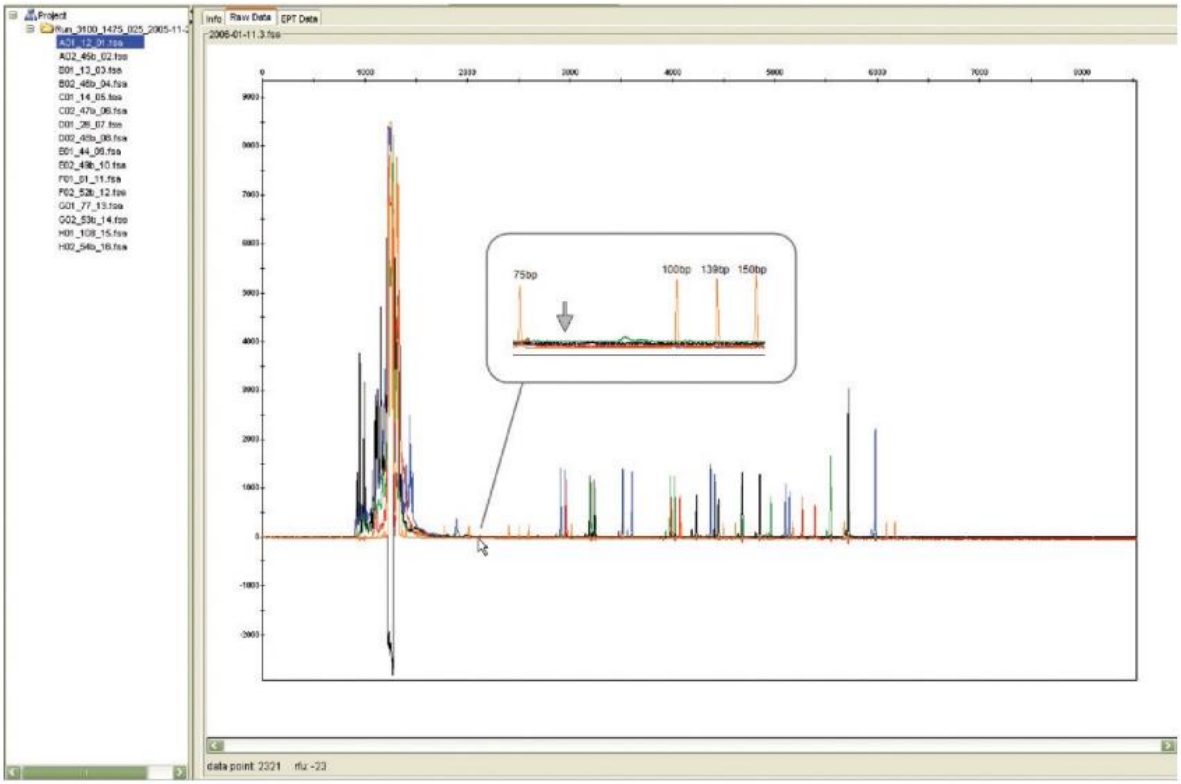
3. Cliquer sur l'onglet « Raw data » (Données brutes) pour afficher l'électrophérogramme des données brutes.

4. En utilisant le premier pic du marqueur de taille (par ex., GS500LIZ de 75 pb) comme référence, sélectionner un point de données supérieur d'environ 100 points de données (figure 6). Cela permet de déterminer le point le plus bas dans la plage analysable.

5. S'assurer que la plage maximale d'analyse inclut le plus grand pic du marqueur de taille (par ex., GS500LIZ de 500 pb ou GS600LIZv2 de 600 pb).

6. Saisir les nouvelles valeurs dans le fichier d'analyse QST*R (en y accédant comme décrit ci-dessus).

Figure 6 : Détermination de la plage minimale à l'aide des données brutes d'échantillon



Analyse des fichiers QST*R-PL importés

1. Dans la fenêtre principale GeneMapper, sélectionner « **QST*R Table Settings v02** » (Paramètres de tableau QST*R v02) (figure 7).

Figure 7 : Sélection des paramètres de tableau QST*R

2. Sous « **Analysis Method** » (Méthode d'analyse), choisir « **QSTR Analysis v02** » (Analyse QSTR v02). Remplir chaque colonne en cliquant sur les touches « **Ctrl+D** ». Répéter cette procédure en sélectionnant « **QSTR-PL »** sous l'en-tête « **Panel** » et « **QSTR** » sous l'en-tête « **Size Standard** » (Marqueur de taille). Penser à remplir en cliquant sur les touches « **Ctrl+D** » pour s'assurer que chaque paramètre est appliqué à l'ensemble de la liste des échantillons

3. Cliquer sur pour démarrer l'analyse de l'échantillon. À l'invite, affecter le nom de projet.

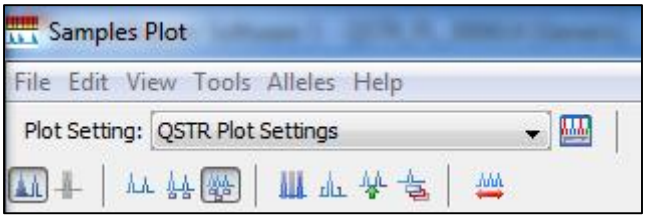
Examiner les données QST*R

1. Sélectionner l'échantillon pour analyse (surligner la ligne de l'échantillon).

2. Cliquer sur « **Display Plots** » (Afficher les graphes) .

3. Sélectionner « **QST*R Plot settings** » (Paramètres de graphe QST*R) (figure 8).

Figure 8 : Menu déroulant des paramètres de graphe QST*R.

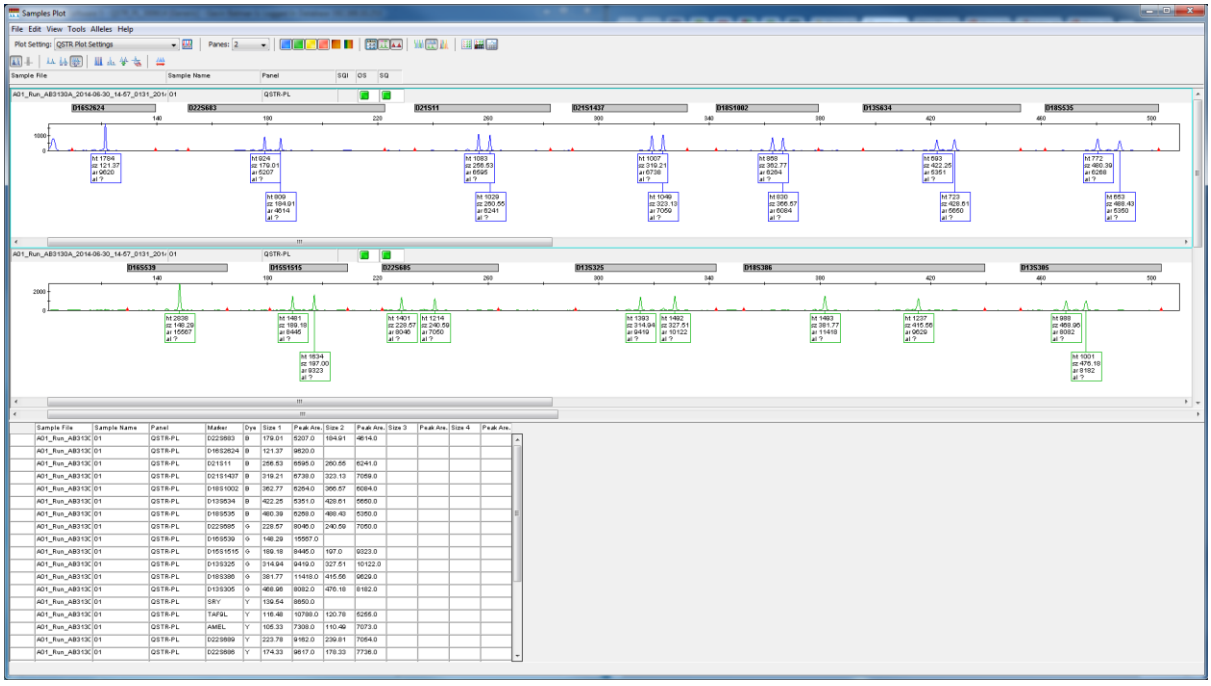


4. La fenêtre de graphe affiche le profil d'échantillon avec les données tabulées (figure 9). Deux pics au maximum pour chaque marqueur sont automatiquement étiquetés par GeneMapper. En présence de trois allèles pour un marqueur, le troisième pic non étiqueté doit être étiqueté manuellement (voir : Modifier manuellement les profils, ci-dessous).

Remarque : *Les plages de taille des allèles pour chaque marqueur sont basées sur les données observées antérieurement. De rares*
allèles peuvent être en dehors de la plage de taille de marqueur donnée, et il peut être nécessaire d'ajuster
en conséquence l'ensemble de segments.

5. Il est recommandé d'activer le paramètre « **Single click editing** » (Modification par clic unique) sur la fenêtre de graphe. Pour cela, sélectionner « **Alleles/set click editing** » (Allèles/Paramétrage de modification par clic) et s'assurer que cette option est cochée.

Figure 9 : Fenêtre de graphe d'échantillon affichant les données de tracé étiquetées et tableau des génotypes correspondants



Modifier manuellement les profils

AVERTISSEMENT :

GeneMapper affecte des étiquettes uniquement pour un maximum de 2 pics par marqueur. Il est donc possible qu'une modification manuelle des profils soit requise, c.-à-d. lors de l'affectation d'étiquettes aux 3e pics (le cas échéant) ou de la suppression d'étiquettes de pics parasites (stutters).

Pour ajouter une étiquette de pic, cliquez avec le bouton de gauche sur le pic non étiqueté. L'utilisateur aura l'option d'ajouter un commentaire d'allèle. Cliquer sur « **OK** ». Le pic sera maintenant étiqueté avec sa taille en paires de bases et sa surface de pic. Le tableau incorpore automatiquement le pic qui vient d'être étiqueté.

Pour supprimer une étiquette de pic, cliquez avec le bouton de gauche sur l'étiquette du pic. L'utilisateur aura l'option de supprimer le commentaire d'allèle. Cliquer sur « **OK** ». L'étiquette du pic est ensuite supprimée. Le tableau retire automatiquement les données du pic supprimé.

Copier les données de tableau

1. Surligner toutes les lignes dans le tableau au bas de la fenêtre de graphe.

2. Copier les lignes sélectionnées en appuyant sur les touches « **Ctrl+C** ».

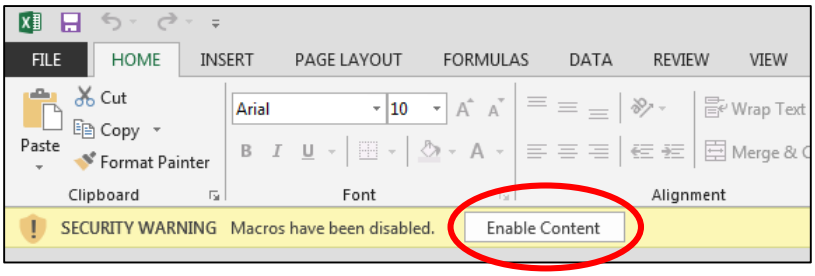
Matrice de compte-rendu QST*R-PL

Les matrices de compte-rendu QST*R-PL peuvent être utilisées pour déterminer les rapports de pic d'un marqueur et faciliter l'analyse des données. La matrice de compte-rendu spécifique à QST*R-PL est disponible sur le site Internet : www.elucigene.com/product-category/rapid-aneuploidy-analysis/

1. Ouvrir le fichier de matrice de compte-rendu QST*R-PL (QSTR-PL Report Template.xlsm).

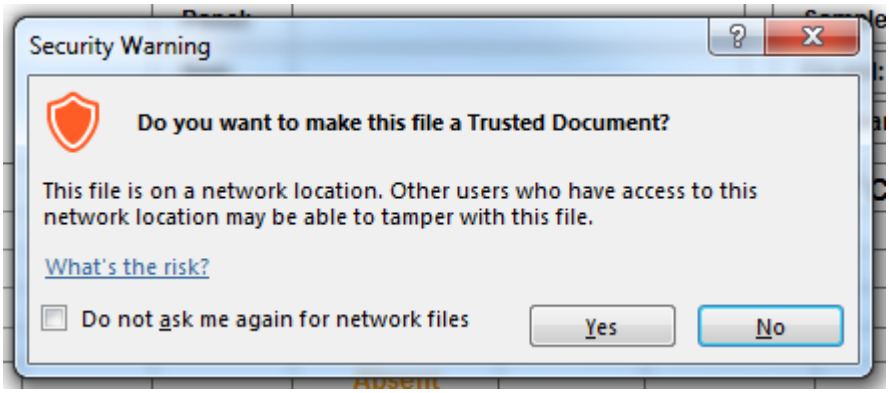
2. Si la matrice de compte-rendu affiche un message d'avertissement indiquant que les macros ont été désactivées, cliquer sur le bouton « **Enable Content** » (Activer ce contenu) pour activer les macros (figure 10).

Figure 10 : Activation de la fonction macro dans la matrice de compte-rendu QST*R-PL



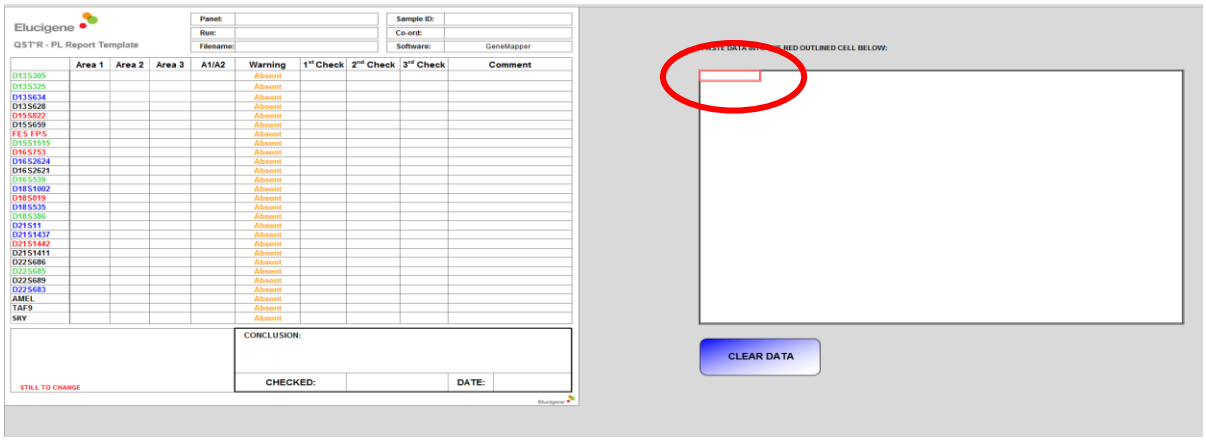
3. Si un avertissement de sécurité est affiché (comme le montre la figure 11), cliquer sur **Yes** (Oui) pour continuer.

Illustration 11 : Autorisation de l'accès de sécurité


Security Warning
Do you want to make this file a Trusted Document?
This file is on a network location. Other users who have access to this network location may be able to tamper with this file.
What's the risk?
Do not ask me again for network files
Yes
No

4. Coller les données de tableau copiées de GeneMapper (voir ci-dessus, « **Copying Data Table** ») (Copier les données de tableau) en appuyant sur les touches « **Ctrl+V** » dans la cellule en haut à gauche de la zone surlignée (voir figure 12).

Illustration 12 : Importation des données brutes de GeneMapper dans la matrice de compte-rendu QST*R-PL.



5. Les rapports calculés pour chaque marqueur apparaissent à présent dans le tableau de données à gauche. Le tableau de données peut être imprimé ou sauvegardé en nouveau fichier pour chaque échantillon spécifique.

6. Afin de traiter les échantillons suivants, il est important que toutes les données soient entièrement supprimées de la matrice de compte-rendu. Afin de réaliser ceci, cliquer sur le bouton « **CLEAR DATA** » (Effacer les données) situé sous le tableau de données brutes dans la matrice de compte-rendu QST*R-PL. Les nouvelles données d'échantillon peuvent à présent être importées en suivant la procédure détaillée ci-dessus.

Noter le rapport

1. La trisomie est déterminée par soit :

    a. Deux pics de hauteur inégale dus au fait que l'un des pics représente deux allèles présents chez les deux parents. Dans ce cas, le rapport entre les deux pics sera classé comme 2:1 ou 1:2. A1/A2 produira un résultat dans la région de 1,8 à 2,4 quand le pic représentant l'allèle plus court a une surface supérieure à celle du pic représentant l'allèle plus long, ou A1/A2 produira un résultat dans la région de 0,45 à 0,65 quand le pic représentant l'allèle plus court a une surface inférieure à celle du pic représentant l'allèle plus long.

Dans les deux cas, « **Ratio** » (Rapport) apparaît dans la colonne « **Warning** » (Avertissement).

    b. Trois pics de hauteur comparable sont présents. Le rapport des pics sera classé comme 1:1:1 et leurs valeurs sont comprises dans la plage normale de 0,8 à 1,4 (bien que pour les allèles ayant un écart supérieur à 24 pb un rapport d'allèle maximal de 1,5 soit acceptable).

Dans ce cas, « **3 alleles** » (3 allèles) apparaît dans la colonne « **Warning** » (Avertissement).

2. Pour interpréter un résultat comme anormal (c.-à-d. présence de trisomie), il est nécessaire d'avoir au moins deux marqueurs informatifs correspondant à un génotype triallélique, tous les autres marqueurs étant non informatifs. Il n'est pas recommandé d'interpréter un résultat comme anormal sur la base d'informations provenant d'un seul marqueur.

3. Pour interpréter un résultat comme normal, il est nécessaire d'avoir au moins deux marqueurs informatifs correspondant à un génotype diallélique, tous les autres marqueurs étant non informatifs. Un résultat normal indique le complément de deux normal pour les chromosomes testés.

4. Les rapports de région de pic qui sont compris entre les plages normale et anormale sont classés comme non concluants. Les résultats non concluants peuvent être résolus en utilisant les kits de chromosome simple.

En l'absence de données de pic pour un marqueur, « **Absent** » s'affiche dans la colonne d'avertissement. Cet avertissement sera systématiquement observé en l'absence de marqueurs du chromosome Y.

Guide d'analyse GeneMarker

Remarque : Les captures d'écran suivantes sont extraites de la version 2.6.3 de GeneMarker.

Ajouter des fichiers d'échantillons à GeneMarker

Ouvrir le fichier de l'application GeneMarker et sélectionner « **Open Data** » (Ouvrir données) à l'invite. La boîte de dialogue Open Data Files (Ouvrir fichiers de données) apparaît.

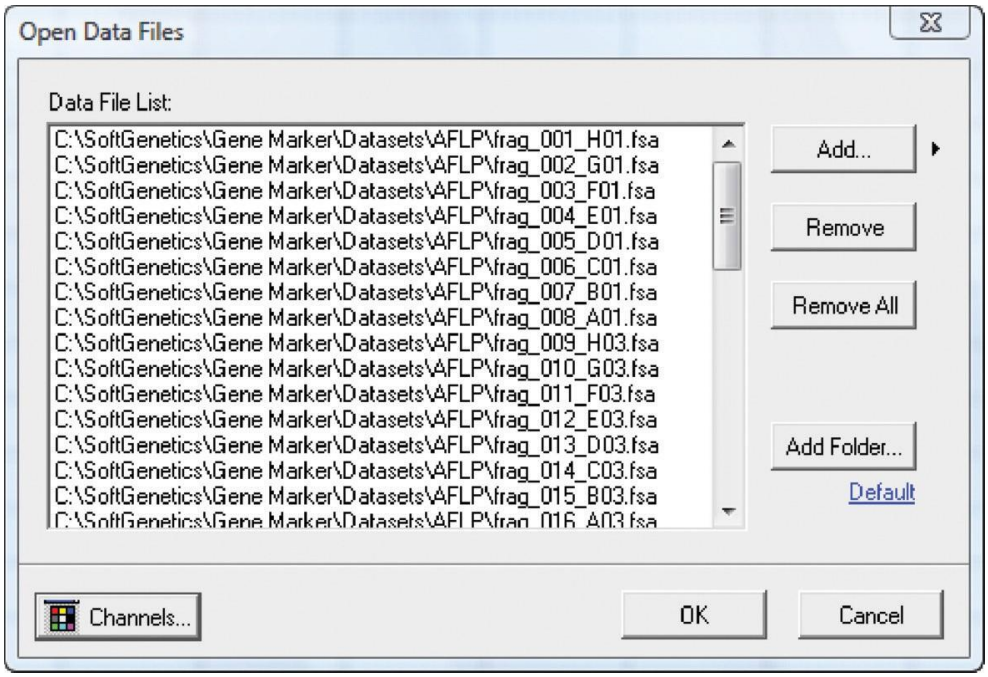
Cliquer sur le bouton « **Add** » (Ajouter). La boîte de dialogue Open (Ouvrir) apparaît. Parcourir les dossiers jusqu'au répertoire contenant les fichiers de données brutes ;

1. Sélectionner tous les fichiers par CTRL+A ou utiliser les touches CTRL et/ou MAJ pour sélectionner des échantillons individuels.

2. Cliquer sur le bouton « **Open** » (Ouvrir) dans la boîte de dialogue Open (Ouvrir).

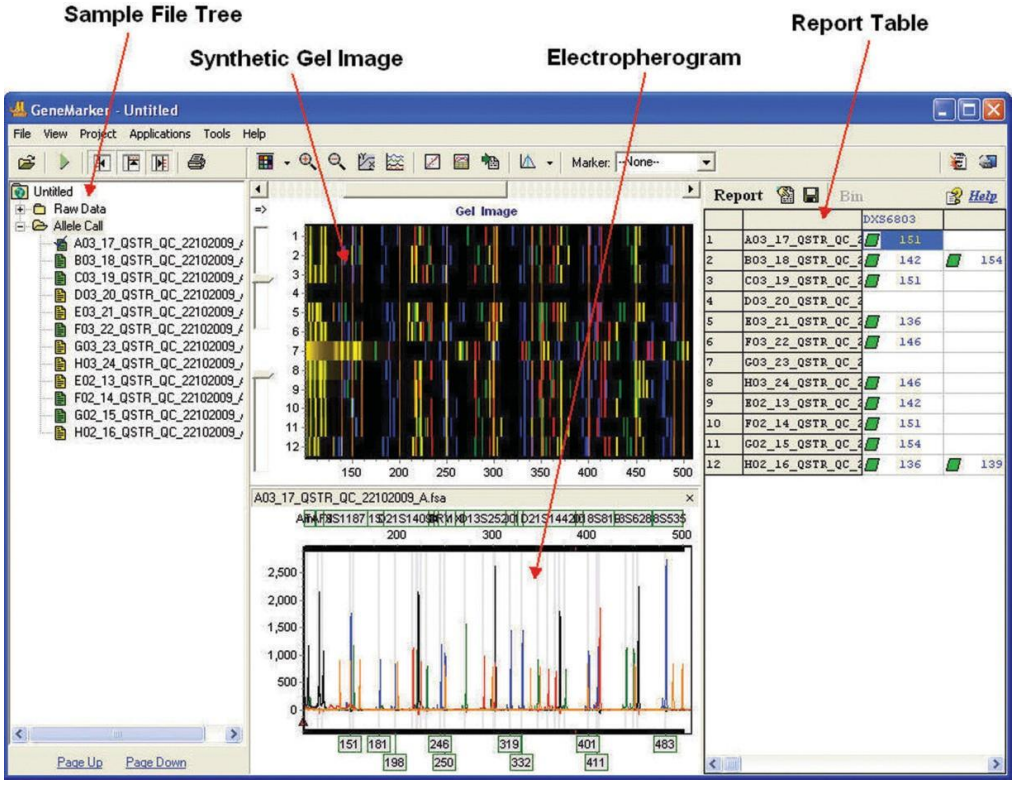
Les fichiers sélectionnés apparaissent dans le champ Data File List (Liste de fichiers de données) (figure 13).

Figure 13 : Échantillons ajoutés à la liste de fichiers de données.



Cliquer sur le bouton « OK » dans la boîte de dialogue Open Data Files (Ouvrir les fichiers de données) pour charger les échantillons dans GeneMarker. Le logiciel ouvrira alors automatiquement la fenêtre Raw Data Analysis (Analyse des données brutes) (figure 14).

Figure 14 : Fenêtre d'analyse des données brutes



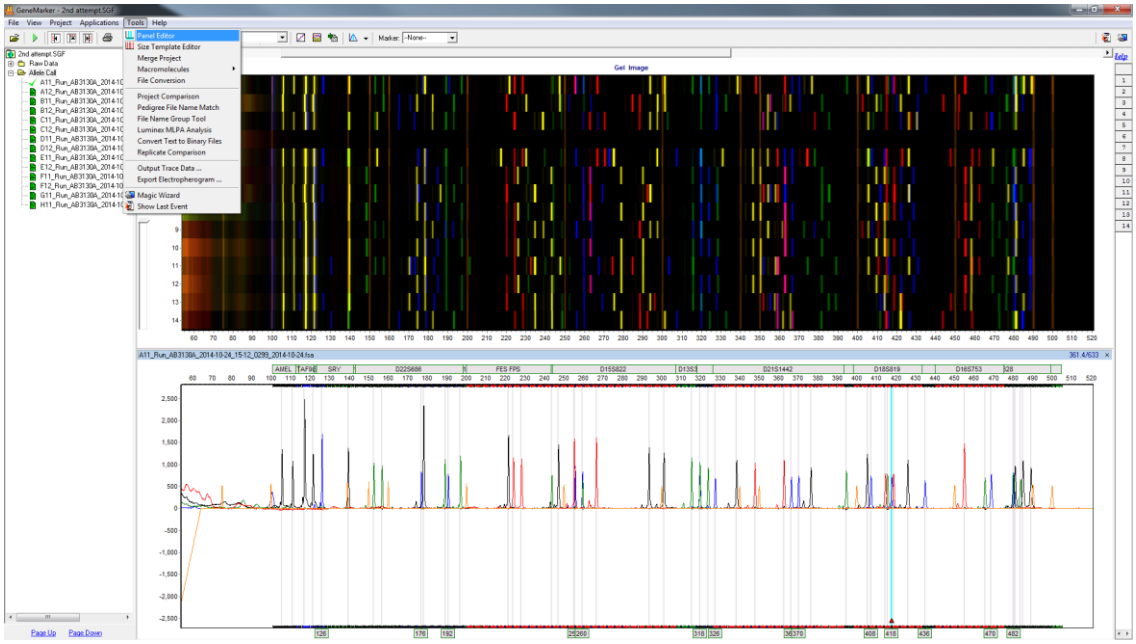
Importer les paramètres de panel QST*R-PL GeneMarker

Les paramètres QST*R pour GeneMarker doivent être importés. Ce processus est contrôlé par l'interface « **Panel Editor** » (Éditeur de panel).

Les paramètres de panel GeneMarker QST*R-PL sont disponibles sur le site Internet de Elucigene : www.elucigene.com/product-category/rapid-aneuploidy-analysis/

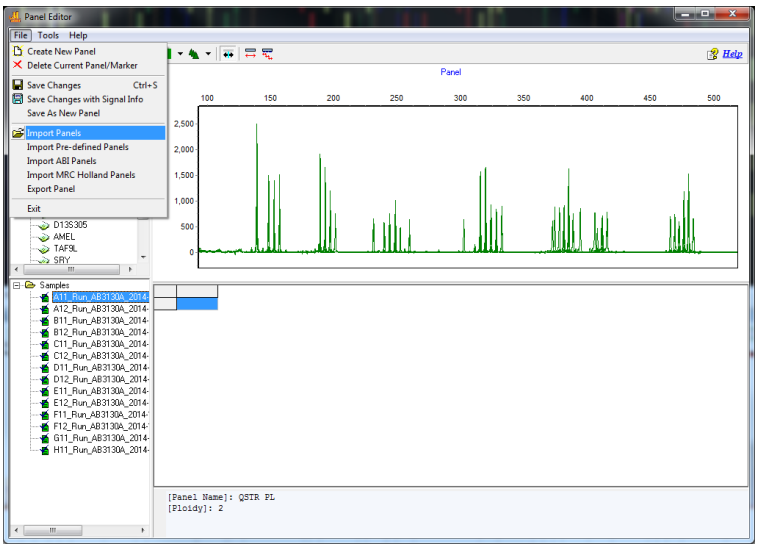
1. Ouvrir « **Panel Editor** » (Éditeur de panel) dans le menu déroulant « Tools » (Outils) (figure 15).

Figure 15 : Sélection de l'éditeur de panel



2. Sélectionner « Import Panels » (Importer les panels) dans le menu déroulant « File » (Fichier) (figure 16).

Figure 16 : Importation des panels



3. Parcourir les dossiers et importer le panel QSTR-PL.xml.

4. Répéter ce processus selon les besoins pour d'autres fichiers de panel appropriés.

Traiter les données

Une fois les fichiers de données brutes chargés dans GeneMarker, ils sont prêts à être traités. L'étape de traitement comprend l'application d'un marqueur de taille, le filtrage des pics de bruit et la comparaison avec un panel d'allèles connu si cela est souhaité.

GeneMarker associe toutes les étapes en un outil simple appelé « **Run Wizard** » (Assistant de traitement) (figure 17). Pour accéder au Run Wizard (Assistant de traitement), il suffit de cliquer sur l'icône « **Run Project** » (Traiter le projet) dans la barre d'outils principale.

Run Wizard (Assistant de traitement) – Création d'une matrice de traitement

Il est nécessaire de créer une matrice de traitement lors de l'utilisation initiale de ce logiciel pour l'analyse des données QST*R-PL. Cela est réalisé à l'aide du Run Wizard (Assistant de traitement) ;

1. Pour accéder au Run Wizard (Assistant de traitement), il suffit de cliquer sur l'icône « **Run Project** » (Traiter le projet) dans la barre d'outils principale.

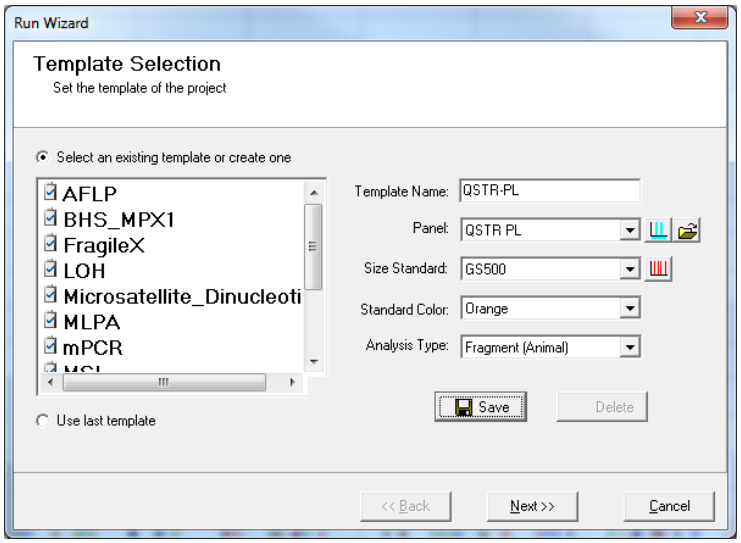
2. Renseigner le champ Template Name (Nom de matrice), par ex. **QSTR-PL**.

3. Sélectionner Panel, Size Standard (Marqueur de taille), Standard Colour (Couleur du marqueur de taille) et Analysis Type (Type d'analyse) comme cela est montré dans la figure 17 ci-dessous.

4. Cliquer sur « **Save** » (Enregistrer) pour sauvegarder la matrice à des fins d'analyses ultérieures.

5. Cliquer sur « **Next** » (Suivant) pour continuer.

Figure 17 : Run Wizard (Assistant de traitement) – Fenêtre Template Selection (sélection de la matrice)



Run Wizard (Assistant de traitement) – Data Process (Traitement des données)

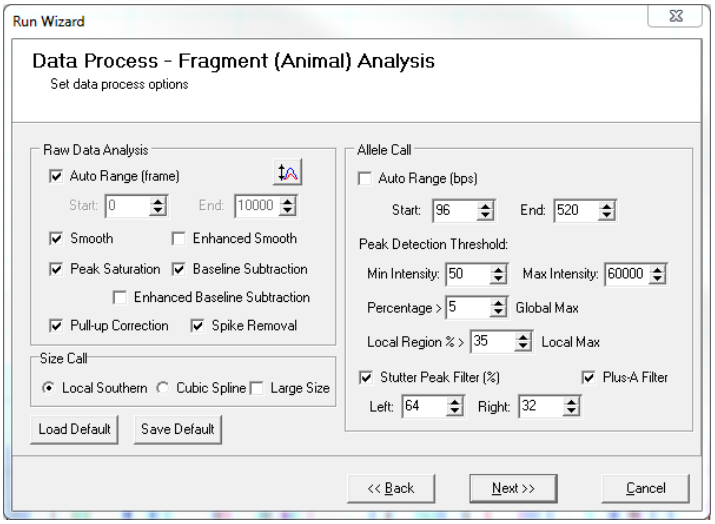
La fenêtre Data Process (Traitement des données) du Run Wizard (Assistant de traitement) permet à l'utilisateur de sélectionner les paramètres de filtrage des pics.

1. Sélectionner les paramètres d'analyse appropriés dans la fenêtre Data Process (Traitement des données), tel que cela est montré dans la figure ci-dessous (figure 18).

2. Cliquer sur « **Next** » (Suivant) pour continuer.

Remarque : *La plage des paramètres d'analyse dans la boîte de dialogue Raw Data Analysis (Analyse des données brutes) varie en fonction du polymère utilisé au cours du recueil des données.* L'utilisateur doit sélectionner une valeur de point de départ qui comprend le pic de marqueur de taille 75 pb.

Figure 18 : Run Wizard (Assistant de traitement) – Data Process Window (Fenêtre de traitement des données)



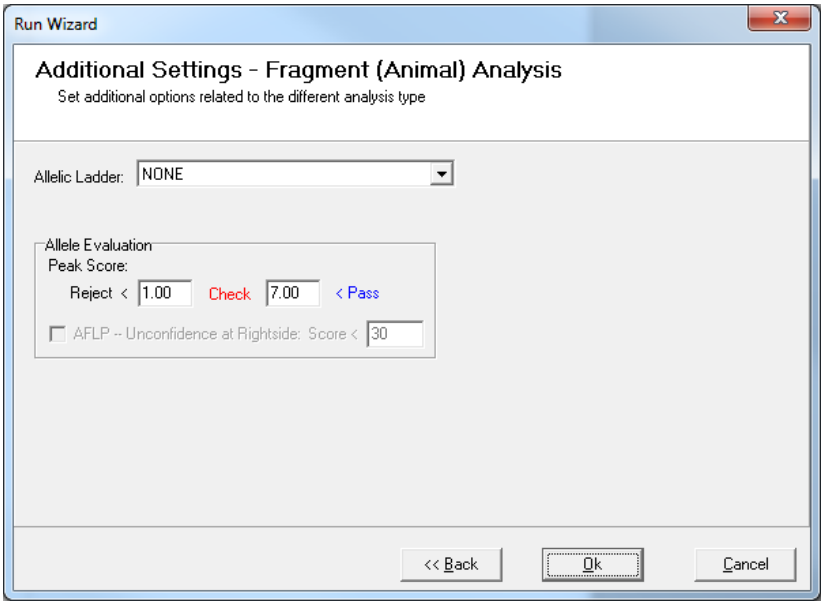
Remarque : *Pour les données du 3500, augmenter le paramètre Minimum Intensity (Intensité minimale) à 150*

Run Wizard (Assistant de traitement) – Paramètres supplémentaires

Aucun paramètre supplémentaire n'est requis pour réaliser l'analyse QST*R (figure 19).

1. Cliquer sur « **OK** » pour continuer.

Figure 19 : Run Wizard (Assistant de traitement) – Paramètres supplémentaires

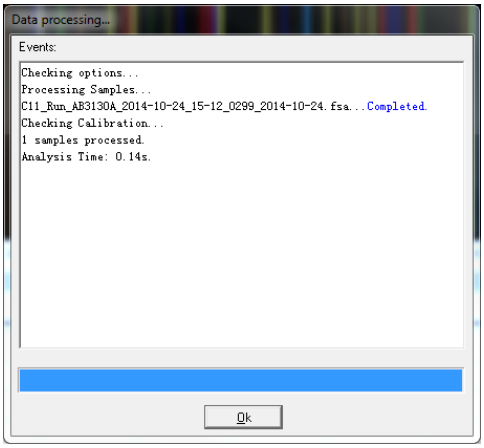


Boîte de dialogue de traitement des données

Après avoir cliqué sur « **OK** » dans la boîte de dialogue Additional Settings (Paramètres supplémentaires) du Run Wizard (Assistant de traitement), la boîte de dialogue Data Processing (Traitement des données) apparaît (figure 20). Les données brutes sont traitées et mesurées, puis les paramètres de filtrage et le panel QST*R sélectionné sont appliqués.

1. Cliquer sur « **OK** » dans la boîte de dialogue Data Processing (Traitement des données) quand l'analyse est terminée

Figure 20 : Boîte de dialogue de traitement des données



Fenêtre principale d'analyse

La disposition de la fenêtre principale d'analyse (figure 21) de GeneMarker est simple à utiliser. Cette disposition comprend les éléments suivants :

- Liste des fichiers d'échantillon – affichée dans la partie gauche de la fenêtre.
- Image du gel synthétique – affichée en haut de la fenêtre.
- Électrophérogrammes des données – en dessous de l'image du gel.
- Tableau de compte-rendu – affiché dans la partie droite de la fenêtre.

Il est important de vérifier dans cette fenêtre que tous les pics appropriés de chaque profil ont été correctement dénommés.

1. Double-cliquer successivement sur chaque échantillon dans l'arborescence des fichiers d'échantillon du côté gauche de l'écran. Cliquer avec le bouton droit sur les pics en question et choisir dans les options de la boîte de dialogue, par ex. modifier ou supprimer l'allèle, confirmer ou annuler la confirmation, selon le cas.

2. Dans la fenêtre Main Analysis (Analyse principale), sélectionner l'option de menu déroulant « **Applications** » en haut de l'écran. Sélectionner « **Trisomy Analysis** » (Analyse de trisomie). La boîte de dialogue Trisomy Analysis Settings (Paramètres d'analyse de trisomie) s'ouvre alors (figure 22).

Figure 21 : Fenêtre principale d'analyse

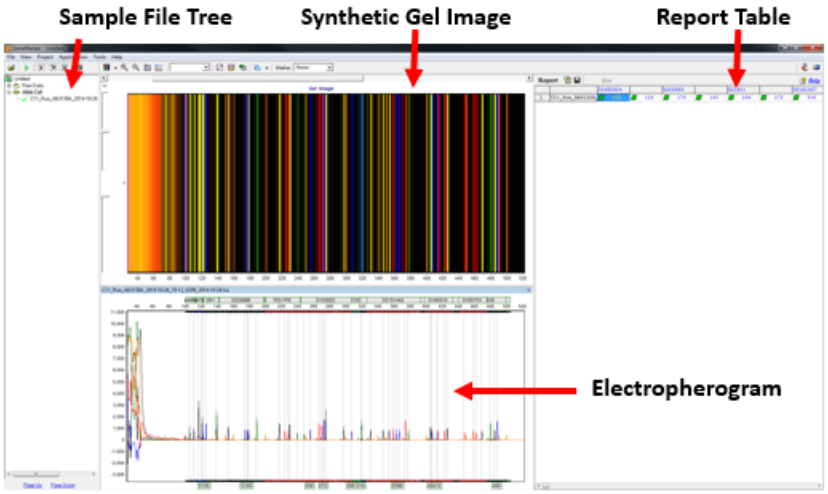
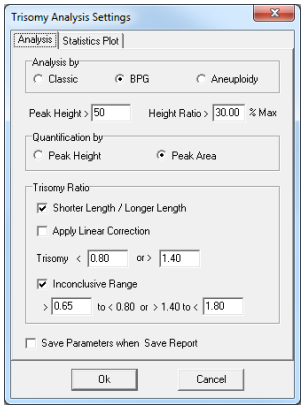


Figure 22 : Boîte de dialogue des Trisomy Analysis Settings (paramètres d'analyse de trisomie)



Trisomy Analysis Settings (paramètres d'analyse de trisomie)

Deux onglets sont disponibles dans la boîte de dialogue Trisomy Analysis Settings (Paramètres d'analyse de trisomie) :

1. Onglet Analysis (Analyse).

2. Onglet Statistics Plot (Graphe des statistiques).

Onglet Analysis (Analyse)

L'onglet Analysis (Analyse) offre des options de paramétrage du seuil pour l'analyse de trisomie. Il convient de s'assurer que « **BPG** » est sélectionné dans la boîte d'analyse et que les paramètres suivants sont affichés :

- Peak Height (Hauteur de pic) 50 : Hauteur minimale de 50 pour la dénomination des pics (150 pour les données du 3500).
- Height Ratio (Rapport de hauteur) 30 % : Pourcentage maximum du pic principal devant être atteint par le deuxième pic pour que deux allèles soient identifiés.
- Quantification by Peak Area (Quantification par surface de pic).
- Option Shorter Length/Longer Length (Longueur plus courte/longueur plus longue) cochée.
- Les seuils pour Trisomy Ratio (Rapport de trisomie) sont de 0,80 à 1,40.
- Option Apply Linear Correction (Appliquer la correction linéaire) décochée.
- Cliquer sur « **OK** ».
-

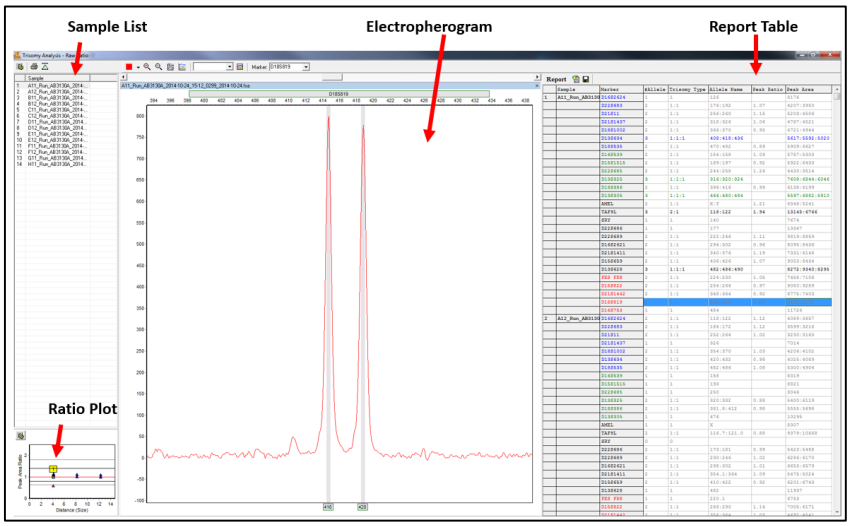
Fenêtre Trisomy Analysis (Analyse de trisomie)

La fenêtre Trisomy Analysis (Analyse de trisomie) (figure 23) permet à l'utilisateur d'examiner les données d'échantillon QST*R,
d'afficher le rapport des pics pour chaque marqueur et d'accéder au compte-rendu GeneMarker.

Plusieurs affichages aident l'utilisateur dans l'analyse des données ; ce sont les suivants :

- Liste des échantillons
- Électrophérogramme
- Graphe de rapport
- Tableau de compte-rendu

Figure 23 : Fenêtre Trisomy Analysis (Analyse de trisomie)



Pour obtenir plus d'informations sur les fonctions d'analyse de trisomie et leur utilisation, consulter le manuel GeneMarker.

Compte-rendu GeneMarker

GeneMarker comprend une matrice de compte-rendu compatible avec les kits Elucigene QST*R. Pour accéder au compte-rendu, cliquer sur l'icône « Print » (Imprimer) situé dans la barre d'outils en haut à gauche de la fenêtre Trisomy Analysis (Analyse de trisomie).

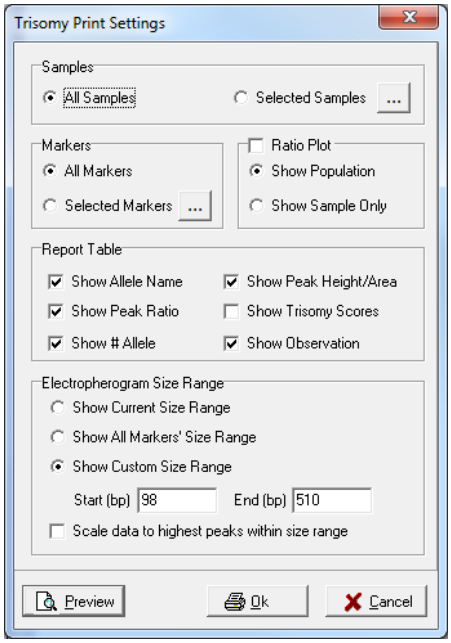
Cela ouvre la fenêtre Trisomy Print Settings (Paramètres d'impression de trisomie) (figure 24).

Trisomy Print Settings Window (Fenêtre des paramètres d'impression de trisomie)

La fenêtre Trisomy Print Settings (paramètres d'impression de trisomie) montre le détail des options d'inclusion et d'affichage des données d'échantillon dans le compte-rendu GeneMarker.

Sélectionner les options comme il est décrit dans la figure 24. S'assurer que « **Custom Size Range** » (Plage de taille personnalisée) est réglée sur 98 pb (pour Start [Début]) et 510 pb (pour End [Fin]).

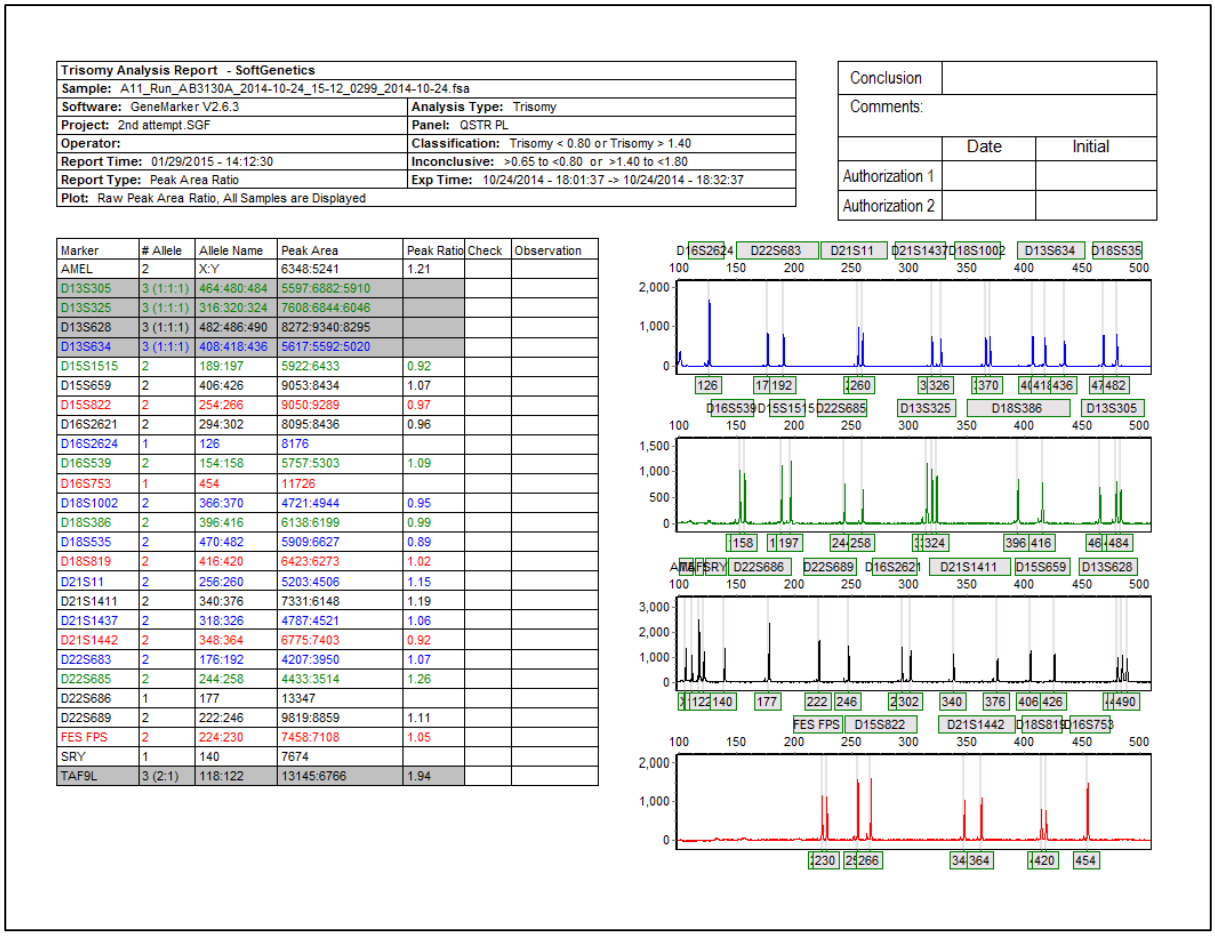
Figure 24 : Trisomy Print Settings Window (Fenêtre des paramètres d'impression de trisomie)



Afficher l'aperçu du compte-rendu GeneMarker

Cliquer sur « **Preview** » (Aperçu) pour afficher le compte-rendu GeneMarker (figure 25). À partir de cette fenêtre, l'utilisateur peut examiner et imprimer les données de pic de chaque échantillon pour tous les marqueurs, pour créer un compte-rendu d'échantillon simple d'une ou deux pages.

Figure 25 : Compte-rendu GeneMarker



Trisomy Analysis Report - SoftGenetics

Sample: A11_Run_AB3130A_2014-10-24_15-12_0299_2014-10-24.fsa	
Software: GeneMarker V2.6.3	**Analysis Type:** Trisomy
Project: 2nd attempt.SGF	**Panel:** QSTR PL
Operator:	**Classification:** Trisomy < 0.80 or Trisomy > 1.40
Report Time: 01/29/2015 - 14:12:30	**Inconclusive:** >0.65 to <0.80 or >1.40 to <1.80
Report Type: Peak Area Ratio	**Exp Time:** 10/24/2014 - 18:01:37 -> 10/24/2014 - 18:32:37
Plot: Raw Peak Area Ratio, All Samples are Displayed	

Conclusion		
Comments:		
	Date	Initial
Authorization 1		
Authorization 2		

Marker	# Allele	Allele Name	Peak Area	Peak Ratio	Check	Observation
AMEL	2	X:Y	6348:5241	1.21		
D13S305	3 (1:1:1)	464:480:484	5597:6882:5910			
D13S325	3 (1:1:1)	316:320:324	7608:6844:6046			
D13S628	3 (1:1:1)	482:486:490	8272:9340:8295			
D13S634	3 (1:1:1)	408:418:436	5617:5592:5020			
D15S1515	2	189:197	5922:6433	0.92		
D15S659	2	406:426	9053:8434	1.07		
D15S822	2	254:266	9050:9289	0.97		
D16S2621	2	294:302	8095:8436	0.96		
D16S2624	1	126	8176			
D16S539	2	154:158	5757:5303	1.09		
D16S753	1	454	11726			
D18S1002	2	366:370	4721:4944	0.95		
D18S386	2	396:416	6138:6199	0.99		
D18S535	2	470:482	5909:6627	0.89		
D18S819	2	416:420	6423:6273	1.02		
D21S11	2	256:260	5203:4506	1.15		
D21S1411	2	340:376	7331:6148	1.19		
D21S1437	2	318:326	4787:4521	1.06		
D21S1442	2	348:364	6775:7403	0.92		
D22S683	2	176:192	4207:3950	1.07		
D22S685	2	244:258	4433:3514	1.26		
D22S686	1	177	13347			
D22S689	2	222:246	9819:8859	1.11		
FES FPS	2	224:230	7458:7108	1.05		
SRY	1	140	7674			
TAF9L	3 (2:1)	118:122	13145:6766	1.94		

Le compte-rendu GeneMarker comprend les caractéristiques suivantes :

- En-tête de compte-rendu : comporte les informations sur l'analyse, le projet, l'échantillon et les paramètres.
- Case de signature : emplacement pour la date et les initiales des examinateurs du compte-rendu.
- Électrophérogramme : comparable à la fenêtre d'analyse de trisomie, affiche toutes les couleurs de fluorochrome du tracé de l'échantillon.
- Tableau de compte-rendu : affiche les valeurs sélectionnées de pic et de marqueur pour l'échantillon en cours. Les dénominations de trisomie sont surlignées en gris. Une colonne supplémentaire de vérification est prévue pour les initiales de l'examinateur.
- Graphe de rapport corrigé : contient tous les points de graphe de l'ensemble de données pour tous les marqueurs dans la couleur de fluorochrome. Les symboles représentent différents marqueurs et peuvent être déchiffrés à partir de la ligne « Symbol » (Symbole) dans « Report Table » (Tableau de compte-rendu). Les symboles jaunes pleins représentent les points de

données de l'échantillon actuel. Les symboles à liseré rouge représentent les dénominations de trisomie.

Remarque : *Le Corrected Ratio Plot (Graphe de rapport corrigé) apparaît sur la deuxième page pour chaque échantillon uniquement quand Ratio Plot (Graphe de rapport) est sélectionné dans la boîte de dialogue Trisomy Print Report Settings (Paramètres d'impression du compte-rendu de trisomie).*

ANNEXE 1 : Étiquettes des fluorochromes

Les marqueurs sont étiquetés comme suit :

6-FAM	VIC	NED	PET
D16S2624	D16S539	AMEL	FES FPS
D22S683	D15S1515	TAF9L	D15S822
D21S11	D22S685	SRY	D21S1442
D21S1437	D13S325	D22S686	D18S819
D18S1002	D18S386	D22S689	D16S753
D13S634	D13S305	D16S2621	
D18S535		D21S1411	
		D15S659	
		D13S628	

Pour obtenir des détails supplémentaires sur les marqueurs STR, y compris les plages de taille, voir l'Annexe 2.

ANNEXE 2 : - Tableau de l'emplacement du marqueur, hétérozygotie observée, plage de taille d'allèle

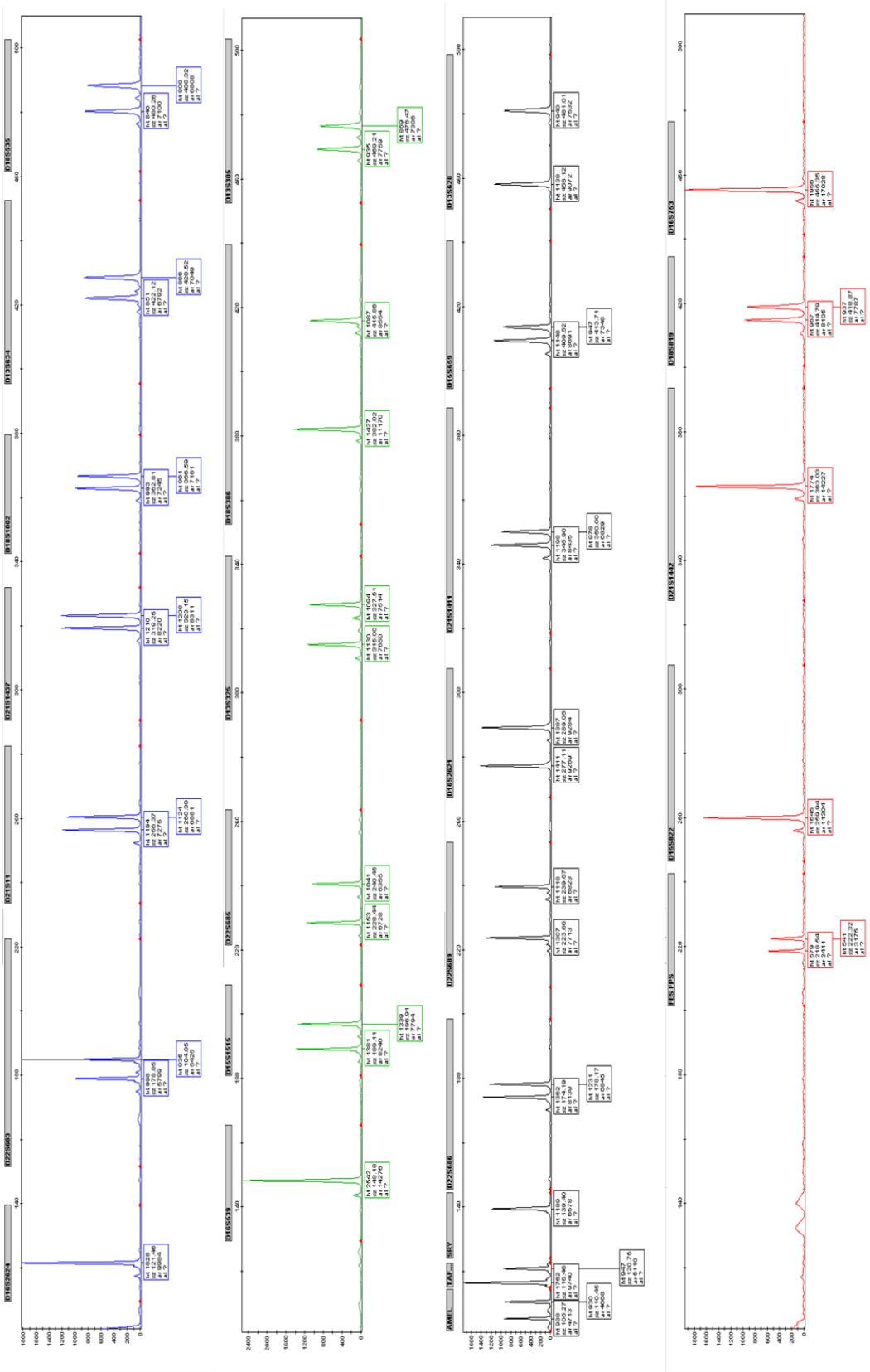
Remarque : *le fluorochrome NED utilisé dans les kits a une identification spectrale jaune. Par convention, il est affiché en type noir pour plus de clarté.*

Marqueur	Emplacement	Hétérozygotie observée*	Plage de taille d'allèle (pb)	Couleur du fluorochrome de marquage
D13S305	13q13.3	0,79	453-504	vert
D13S325	13q14.11	0,80	292-343	vert
D13S634	13q21.33	0,84	396-453	bleu
D13S628	13q31.1	0,75	451-499	jaune
D15S822	15q12	0,86	247-308	rouge
D15S659	15q21.1	0,86	395-441	jaune
FESFPS	15q25.2	0,61	202-243	rouge
D15S1515	15q26.3	0,81	181-209	vert
D16S753	16p11.2	0,77	442-477	rouge
D16S2624	16q22.3	0,71	110-140	bleu
D16S2621	16q23.2-q24.2	0,79	268-308	jaune
D16S539	16q24.1	0,76	130-166	vert
D18S1002	18q11.2	0,76	343-380	bleu
D18S819	18q11.2	0,73	401-435	rouge
D18S535	18q12.3	0,77	462-503	bleu
D18S386	18q22.1	0,92	353-440	vert
D21S11	21q21.1	0,82	234-283	bleu
D21S1437	21q21.1	0,76	291-332	bleu
D21S1442	21q21.3	0,85	328-394	rouge
D21S1411	21q22.3	0,83	319-389	jaune
D22S686	22q11.2	0,69	146-199	jaune
D22S685	22q11.23	0,77	222-264	vert
D22S689	22q12.1	0,74	209-254	jaune
D22S683	22q12.3	0,87	152-223	bleu
AMEL	Xp22.22/Yp11.2	s.o.	104/110	jaune
TAF9	3p24.2/Xq21.1	s.o.	116/121	jaune
SRY	Yp11.31	s.o.	124-145	jaune

***Les hétérozygoties observées sont basées sur un nombre d'allèles observés avec le panel de validation de Elucigene Diagnostics. Ces chiffres peuvent donc être différents des données publiées et peuvent aussi varier selon la population testée.**

ANNEXE 3 : Profil GeneMapper

Profil GeneMapper pour un homme normal montrant les positions relatives des marqueurs détectés par QST*R-PL.



Limites de la procédure

Ce test est conçu pour détecter des trisomies chromosomiques spécifiques et des aneuploïdies des chromosomes sexuels, comme il est décrit dans le mode d'emploi. Il peut ne pas détecter les réorganisations structurelles impliquant les chromosomes testés et ne détectera pas les anomalies dans d'autres chromosomes. Il est possible que le mosaïcisme ne soit pas détecté pour les chromosomes testés. Un résultat QST*R-PL peut uniquement être appliqué directement au tissu testé et peut ne pas représenter le caryotype fœtal. Une contamination par des cellules maternelles (CCM) et un mosaïcisme confiné au placenta (MCP) peuvent entraîner des divergences entre les résultats du QST*R-PL et du caryotype.

Remarque : *Les hétérozygoties des marqueurs utilisés ont été dérivés d'un ensemble d'échantillons au hasard soumis pour des analyses de routine et provenant d'une population principalement blanche d'Europe du nord. Tous les calculs effectués en utilisant ces hétérozygoties s'appliquent strictement à la population dont proviennent les échantillons. Une petite étude utilisant des échantillons dérivés localement peut être réalisée dans le cadre d'une étude de validation pour établir les hétérozygoties dans la population à tester. Il n'est pas attendu que les variations de population modifient significativement la valeur informative globale du test.*

Avis de non-responsabilité

Les résultats de ce test diagnostique doivent être interprétés en association avec d'autres données de laboratoire et cliniques à la disposition du clinicien.

Ces réactifs Elucigene sont fournis pour des tests de diagnostic *in vitro*.

Plus de détails sur les produits Elucigene QST*R sont disponibles à l'adresse : www.elucigene.com.

Références

Goddijn M, Leschot NJ. Genetic aspects of miscarriage. Baillieres Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol. 2000 Oct;14(5):855-65

Gardner RJM, Sutherland GR., (2004). Chromosome Abnormalities and Genetic Counselling. New York: Oxford University Press. 339-360.

Mansfield E S. Diagnosis of Down syndrome and other aneuploidies using quantitative polymerase chain reaction and small tandem repeat polymorphisms. Human Molecular Genetics 1993 2(1): 43-50

Mann K, Fox SP, Abbs SJ, Yau SC, Scriven PN, Docherty Z, Mackie Ogilvie C. Development and implementation of a new rapid aneuploidy diagnostic service within the UK National Health Service and implications for the future of prenatal diagnosis. The Lancet 2001 358 (9287): 1057-1061

Mann K, Donaghue C, Fox SP, Docherty Z, Mackie Ogilvie C. Strategies for the rapid prenatal diagnosis of chromosome aneuploidy. European Journal of Human Genetics 2004 12: 907-915

Mackie Ogilvie C, Donaghue C, Fox SP, Docherty Z, Mann K. Rapid prenatal diagnosis of an aneuploidy using Quantitative Fluorescence-PCR (QF-PCR). Journal of Histochemistry and Cytochemistry 2005 53(3): 285-288

Deutsch S, Choudhury U, Merla G, Howald C, Sylvan A, Antonarakis SE. Detection of aneuploidies by paralogous sequence quantification. Journal of Medical Genetics 2004 41: 908-915

ELUCIGENE et QST*R sont des marques commerciales de Delta Diagnostics (UK) Ltd.

GENEMARKER est une marque commerciale de Softgenetics Corporation. GENEMAPPER, GENESCAN, NED, VIC, PET, POP-7, LIZ et HI-DI sont des marques commerciales de Life Technologies Corporation.

Avis à l'acheteur : Licence limitée

Ce produit est vendu conformément à un accord avec Life Technologies Corporation. L'achat de ce produit confère à l'acheteur le droit non transférable d'utiliser uniquement la quantité de produit et les composants achetés seulement pour le diagnostic in vitro humain, et uniquement dans le cadre de l'indication clinique décrite dans le mode d'emploi. De plus amples informations sur l'obtention des droits d'utilisation de ce produit ou ses composants peuvent être obtenues en contactant outlicensing@lifetech.com.

Copyright © 2014 Delta Diagnostics (UK) Ltd.